

④日本国特許庁 (JP) ①特許出願公開
②公開特許公報 (A) 昭60-248172

⑤Int.Cl.
C 12 N 1/00

識別記号

厅内整理番号
6712-4P

③公開 昭和60年(1985)12月7日

審査請求 未請求 発明の数 2 (全5頁)

④発明の名称 迅速に崩壊する、使用が容易な、新規な固形の培養基とその製造方法

②特 願 昭60-18473

②出 願 昭60(1985)1月31日

優先権主張 ③1984年2月9日③フランス(FR)③8402000

④発明者 ジャン-ベルナル・ドオミオー フランス国 61300 レーグル・リュー・ピエール・ボアトー 4

④出願人 ソシエテ・ダブリカシオン・ファルマステ オン・エ・ビオロジイーク・エ・ヘキストーベーリング フランス国 92500 リュエイール・マルメゾン アブニユー・ナボレオン・ボナバルト 260

④代理 人 弁理士 中島三千雄 外2名
最終頁に続く

明細書

1. 発明の名称

迅速に崩壊する、使用が容易な、新規な固形の培養基とその製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 所望の分析を行なうのに必要な全ての成分を含む錠剤の形状において提供される、新規な固形の培養基にして、そのような錠剤形状物が、その総重量中の5~50%、好ましくは13~22%の崩壊剤を含んでいることを特徴とする培養基。

(2) 前記崩壊剤が、酒石酸-亜炭酸ナトリウム及び又はリジン・カーボネートを1:2~1:4の割合で共に含む起泡剤である特許請求の範囲第1項記載の培養基。

(3) 単位分析操作に丁度必要且つ十分な量の種々なる試薬から形成される培養基にして、前記錠剤の重量が、0.01g~5gの間において構成されている先の特許請求の範囲の何れかに従う培養基。

(4) 消毒・殺菌が可能であるところの先の特許請求の範囲の何れかに従う培養基。

(5) 所望ならば、様々な濃度において、如何なる微生物(バクテリア、ビールス、カビ、酵母など)の生長をも抑制する試薬を含むことが可能であるところの先の特許請求の範囲の何れかに従う培養基。

(6) 成長指示剤(酸化-還元指示薬、pH指示薬、着色成長指示薬など)を含むことが可能であるところの先の特許請求の範囲の何れかに従う培養基。

(7) 新陳代謝特質(例えば、酵素基質、マンニトール、ラクトースなど)の同定試薬を含むことが可能な先の特許請求の範囲の何れかに従う培養基。

(8) 安定剤となることも可能な、一つ又はそれ以上の潤滑剤(例えば、安息香酸ナトリウム及び又はP.B.G.6000)を、更に含んでいる先の特許請求の範囲の何れかに従う培養基。

(9) 圧縮並びに、場合により、消毒・殺菌が行な

われる以前に、培養基の全構成成分を複数回にわたって連続的に予備混合することを含んでいる先の特許請求の範囲の何れかに従う固形の培養基を製造する方法。

44. 培養基の組成物の構成成分となるものの1つ若しくはその幾つか或いはその全てが、凍結乾燥によって乾燥される特許請求の範囲第9項に従う方法。

3. 発明の詳細な説明

(発明の背景)

本発明は、迅速に崩壊する(crumbling)、使用が容易な、新規な固形の培養基(culture medium)に関するものである。

1909年以来、ドイツのDOERRは保存を可能にするために、ガラス板上で培養基を乾燥してきた。その数年後から、アメリカのFROSTは、培養基の乾燥についての体系的な研究を重ねてきた。現在では、固形の培養基が工業的に製造されている。例えば、デトロイトのDIFCO社は、乾燥状態での、かなりの数の、しばしば非常

に複雑となる培養基を提供している。しかしながら、このような培養基を使用する際には、無数の操作が必要となり、例えば、計量や消毒・殺菌を施したり、溶解したりすることが必要となるのである。

この様な様々な操作はしばしば長時間にわたり、その操作のうち幾つかは、大体は完全となるが、その断続的な操作が後の使用の際にエラーの原因となる可能性がある。

それ故に、本発明の目的とするところは、如何なる計量も、如何なる消毒・殺菌や分配の操作も必要とせず、また完璧で、迅速且つ完全なる溶解性を有する、使用が容易な、固形の培養基を提供することにある。

(発明の一般的な記述)

本発明に従えば、所望の分析を遂行するのに必要な全ての成分を含有する、圧縮された錠剤の形状にあることを特徴とする新規な固形培養基が提供され、そしてそのような錠剤は崩壊剤(crumbling agent)を備えているものである。

本発明特に有利な具体例に従えば、かかる崩壊剤は、酒石酸-重炭酸ナトリウム及び/又はリジン・カーボネートを1:2から1:4の割合で共に含んでいる起泡剤である。

この具体例の有利な様式の一つにおいて、起泡剤の含量は、錠剤の錠重量の5~50%、好ましくは13~22%を構成しているのである。

この具体例は、極めて有利である：そのような条件下で溶解水を加えた時、錠剤は擗裂し、そして遊離した、拘束されていない気泡（この泡は光学的な測定にとって邪魔になる恐れがある）が表面で凝集せしめられるのである。

本発明に従えば、かかる錠剤は、一つの単位分析の操作に丁度必要且つ十分な量において、種々なる試薬の所定量から形成されており、かかる錠剤の重量は、0.01gから5gの間で構成されている。

本発明の1つの有利な具体例において、かかる錠剤は、消毒・殺菌することができる。

本発明に従う錠剤は、所望ならば、如何なる微

生物（バクテリア、ビールス、カビ、酵母など）の生長をも抑制する試薬を、様々な濃度において含むことが可能である。

他の具体例においては、本発明に従う錠剤は、成長指示剤（酸化-還元指示薬、pH指示薬、着色成長指示薬など）を含むことも可能である。

更にまた別の具体例において、かかる錠剤は、新陳代謝特質（例えば、酵素基質、マンニトール、ラクトースなど）を同定する試薬を含むこともできる。

本発明に従えば、その錠剤は、1つ又はそれ以上の、安定剤となることも可能な潤滑剤（例えば、安息香酸ナトリウム及び/又はP.E.G.6000）をも、更に含むことができる。

このような固形の培養基の利点は注目すべきものである。それらは、被検物の生長に最適な、所望のpHまで緩衝されることが可能である。かかる固形培養基は、このように使用が容易で、取り扱いが簡単であり、そして迅速で且つ完全な溶解性を有しており、細胞の生長と同じく、バクテリア、

ビールス、カビ、酵母の生長にも適している。

本発明の目的は、圧縮並びに、場合により、消毒・殺菌が行われる以前に、培養基の全構成成分を複数回にわたって連続的に予備混合を行なうことを特徴とする、本発明に従って固形の培養基を製造する方法を提供することにある。

本発明に従う製造方法の有利な具体例においては、培養基の組成物の構成成分となるものの一つ若しくはその幾つか或いはその全てが、凍結乾燥によって乾燥せしめられることである。

本発明は、以下に述べられる追加の記述を参照することによって一層よく理解されるであろう。そのような記述は、本発明に従う培養基の組成物とその製造の例に係るものである。

しかしながら、下記に記述される、実施された様々な例は、純粹に本発明の具体的説明のために与えられたものであり、如何なる場合においても制限を加えるものではないということは、よく理解されるべきである。

実施例2：静かな温度でゲンタマイシン(Gentacycline)を含む試料の組成

第2表

ゲンタマイシン	0.000333	0.000666	0.001333	0.002666	0.005333	0.010666	0.021333
ゲンタマイシンを 含有する、真空凍結 乾燥された培養基	0.624	1.248	2.496	4.992	9.984	19.968	39.936
硝石酸	4.333	4.333	4.333	4.333	4.333	4.333	4.333
重炭酸ナトリウム	10.666	10.666	10.666	10.666	10.666	10.666	10.666
安息香酸 ナトリウム	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000
培養基	79.886	78.733	77.489	75.000	70.000	60.000	40.000

*量は、百分率で表示されている。

実施例3：2の割合と0.125 μg～8 μgの範囲の濃度においてゲンタマイシンを
含有する組成

第3表

ゲンタマイシン	0.125	0.250	0.500	1	2	4	8
ゲンタマイシンを 含有する、真空凍結 乾燥された培養基	234	469	938	1875	3750	7500	15000
硝石酸	1625	1625	1625	1625	1625	1625	1625
重炭酸ナトリウム	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000
安息香酸 ナトリウム	1875	1875	1875	1875	1875	1875	1875
培養基	29766	29531	29062	28125	26250	22500	15000
一つの試料の重量	37500	37500	37500	37500	37500	37500	37500

*量は、マイクログラムで表示されている。

実施例4：培養基の組成の百分率

培養基1

バイオトリプカーゼ(Bio-tripcase)	39.58
バイオソイイヤーゼ(Bio-soyase)	13.19
塩化ナトリウム	10.55
重炭酸ナトリウム	10.55
亜硫酸ナトリウム	0.53
酒石酸	4.29
シスチン	1.85
ブドウ糖	14.51
安息香酸ナトリウム	4.95
	100.00

培養基2

カゼイン・ペプトン	45.39
大豆澱粉ペプトン	8.00
ブドウ糖	6.67
塩化ナトリウム	13.33
重炭酸ナトリウム	10.67
酒石酸	4.83
磷酸二カリウム	6.67
安息香酸ナトリウム	5.00
	100.00

培養基3

バイオトリプカーゼ	37.13
バイオソイイヤーゼ	12.38
塩化ナトリウム	9.90
亜硫酸ナトリウム	0.50
酒石酸	4.93
シスチン	1.73
ブドウ糖	13.61
安息香酸ナトリウム	2.47
P.B.C.6000	2.48
リジン・カーボネート	14.87
	100.00

実施例5

錠剤あたり $4 \mu g \sim 6.4 \mu g$ のチカルシリソ (Ticarcillin) を含有している錠剤状の培養基を製造することを意図した混合物の調型の例である。

1.875 mg 中に $1.6 \mu g$ の抗生物質を含有する混合物が調製された。

培養基中の抗生物質の均一な分布を保証するために、その手順は、高速ミキサー（例えば、ロディゲ (Lodige), ステファン (Stephan), ヘンシェル (Benschel) など）中で連続的に 3 回予備混合することによって行なわれる。

例：0.500 g の抗生物質と 5 g の培養基；これは、高速ミキサーで 3.0 秒間攪拌される。

この第一の混合物に対して、同じ培養基 2

5 g が加えられ、高速ミキサーで 3.0 秒間攪拌される。この第二の混合物に対して、28.6 1 g の同じ培養基が加えられ、それは高速ミキサーで 3.0 秒間攪拌される。

その混合物は、1.875 mg 中に $1.6 \mu g$ の抗生物質を含有している。

次の第4表は、調合済みの錠剤 37.5 mg につき、それぞれ 4, 8, 16, 32, 64 μg のチカルシリソを滴定する錠剤の組成に含まれる混合物の量を表示したものである。

*なお、表中の量は、mg で表示されている。

第 4 表

抗生物質を含有する混合物	0.469	0.938	1.875	3.750	7.500
酒石酸	1.625	1.625	1.625	1.625	1.625
重炭酸ナトリウム	4.000	4.000	4.000	4.000	4.000
安息香酸ナトリウム	1.875	1.875	1.875	1.875	1.875
培養基	29.540	29.000	28.125	26.250	22.500

如何なる実際の様式、具体例、応用が採択されたとしても、固体の培養基（その幾つかは既に先に述べられている）が、従来から公知の培養基に比して、重要な利点を得ているということは、以上説明した具体例から明らかであり、特に：

かかる錠剤は、著しく取扱いが容易で、崩壊し易いので、固形、半固形、液体状の培養基を再構成するのに仕向られる：

かかる錠剤は、例えば抗生物質、抗カビ剤等を様々な濃度において含むように、特に適応させられる：

かかる錠剤は、バクテリア、ビールス、カビ、酵母、細胞用の何れの培養基からも製造することができる：

かかる錠剤は、最上の状態下で最適な読み取りシステムの使用を可能にする。そして、この事実により、微生物学的技術の実現、特に、どんな被検物からの検出、測定もできる。例えば、血清、尿、脳脊髄液、生検液、酵母、水等：

錠剤の迅速崩壊性は、異なる成長研究による微

生物の、ディスク感度テストや、最小限の抑制濃度、同定、特徴づけなどの決定のための、使用が容易な培養基の再構成を可能にする：

本発明に従う錠剤は、その完璧さと迅速崩壊性によって、単に蒸溜水を加えるだけで、短時間のうちに使用可能な培養基（又はバクテリア、ビーカー、カビ、酵母、細胞）を作り出すことができる。

先行の説明から明らかなように、本発明は、ここで詳細に説明された実験、具体例および応用例などの様式に限定されるものではなく、その主旨や範囲を逸脱することなく当業者の知識に帰する全ての修正をも含むものである。

出願人 ソシエテ・ダブリカジョン・ファル
マスティック・エ・ビオロジーク
・ヘキストーベーリング

代理人 弁理士 中島三千雄
(ほか2名)

第1頁の続き

- | | | |
|------|---------------|--|
| ②発明者 | ジャン-クロード・ガリエ | フランス国 61300 レーグル ロルロージュ トウル・メルモ (番地なし) |
| ②発明者 | クロード・シユビーゼル | フランス国 61300 レーグル ラ・マドレース トゥル・ジユール・ロマン 46 |
| ②発明者 | ピエール-ジヤン・ヴォール | フランス国 75016 パリ アブニュー・ドウ・ラムバル |

10.